

ten Fall gehorcht die Substitution der abnehmenden Spannung von der Peripherie zur Seelenachse der Helix^[16]. Im letzten Fall wird eine lange P-P-Bindung in P_4S_7 so substituiert, daß die Gerüstspannung abnimmt^[17].

Eingegangen am 27. Dezember 1990,
veränderte Fassung am 8. April 1991 [Z4362]

- [1] W. Hönle, H. G. von Schnering, *Angew. Chem.* 98 (1986) 370; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 352.
- [2] M. C. Böhm, R. Gleiter, *Z. Naturforsch. B36* (1981) 498.
- [3] M. Baudler, H. Ternberger, W. Faber, J. Hahn, *Z. Naturforsch. B34* (1979) 1690.
- [4] M. Baudler, *Angew. Chem.* 94 (1982) 590; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 492.
- [5] B. M. Gimarc, P. J. Joseph, *Angew. Chem.* 96 (1984) 518; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 506.
- [6] R. Blachnik, U. Wickel, *Angew. Chem.* 95 (1983) 313; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 217.
- [7] B. M. Gimarc, J. J. Ott, *Inorg. Chem.* 28 (1989) 2560.
- [8] R. Ahlrichs, M. Häser: *Programm TURBOMOLE (J. Comput. Chem.* 10 (1989) 104).
- [9] G. Igel-Mann, H. Stoll, H. Preuß, *Mol. Phys.* 65 (1988) 1321.
- [10] A. Burkhardt, U. Wedig, W. Hönle, H. Preuß, H. G. von Schnering, unveröffentlicht; A. Burkhardt, *Diplomarbeit*, Max-Planck-Institut für Festkörperforschung 1989; A. Burkhardt, W. Hönle, H. G. von Schnering, U. Wedig, H. Preuß, 25. *Symp. Theor. Chem. Collect. Abstr.* 1989, 33.
- [11] R. Ahlrichs, *Chem. Phys. Lett.* 34 (1975) 570.
- [12] P. Pyykkö, Y. Zao, *J. Phys. Chem.* 94 (1990) 7753.
- [13] V. Manriquez, W. Hönle, H. G. von Schnering, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 539 (1986) 95.
- [14] A. L. Allred, E. G. Rochow, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 5 (1958) 264; R. T. Sanderson: *Polar Covalence*, Academic Press, New York 1983.
- [15] W. Hönle, H. G. von Schnering, unveröffentlicht.
- [16] W. Hönle, H. G. von Schnering, *IVth Eur. Crystallogr. Meet. Oxford Collect. Abstr. B* 1977, 552.
- [17] W. Hönle, C. Wibbelmann, W. Brockner, *Z. Naturforsch. B39* (1984) 1088.

Charakterisierung ligandstabilisierter Bimetall-Kolloide durch hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie und energiedispersive Röntgenmikroanalyse**

Von Günter Schmid*, Andreas Lehnert, Jan-Olle Malm und Jan-Olov Bovin

Professor Hans Georg von Schnering
zum 60. Geburtstag gewidmet

Bimetall-Cluster und -Kolloide sind aus zwei Gründen von besonderem Interesse: Zum einen können sie als Modelle zur Bildung von Legierungen dienen, zum anderen könnte der Einsatz von teuren Metallen wie Pt durch Optimierung der Synthesebedingungen, die die Herstellung sehr dünner Oberflächenschichten ermöglichen, auf ein Minimum reduziert werden.

Miner et al.^[1] beschrieben die Synthese von Gold-Platin- und Palladium-Platin-Legierungen als monodisperse Sole durch die gleichzeitige Reduktion entsprechender Salzgemische in verschiedenen molaren Verhältnissen. Danach ist die Bildung von Gold-Platin-Legierungen in jedem beliebigen

Atomverhältnis möglich, obwohl die beiden Metalle eine breite Mischungslücke zwischen 2 und 85 % Au aufweisen^[2]. Die Homogenität der Au/Pt-Legierungen wurde aufgrund optischer Spektren, Sedimentationsmessungen und elektronenmikroskopischer Untersuchungen postuliert. Die für diese Untersuchungen benutzten Partikelgrößen variierten zwischen 3–6 nm. Die Veränderungen der d_{111} -Abstände können jedoch mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) schwerlich genau genug bestimmt werden, um die Homogenität der Partikel zu beweisen, wie das in der Arbeit von Miner et al. behauptet wird.

Diese Arbeit beschreibt die Synthese ligandstabilisierter Bimetall-Kolloide und identifiziert die Schalenstruktur solcher Partikel mittels hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM) und energiedispersiver Röntgenmikroanalyse (EDX).

Goldkolloide mit einem Durchmesser von 18 nm^[3, 4] können mit Platin- oder Palladiumschalen bedeckt werden, wenn eine wäßrige Lösung der Kolloide zu einer Lösung von H_2PtCl_6 bzw. H_2PdCl_4 und H_3NOHCl gegeben wird. Das ursprünglich rote Goldkolloid wird dabei braun-schwarz. Die Zugabe von $p-H_2NC_6H_4SO_3Na$ stabilisiert die erzeugten Partikel in entsprechender Weise wie $P(m-C_6H_4SO_3Na)_3$ die Goldkolloide^[3], so daß sie im festen Zustand isoliert werden können. Diese Art der Stabilisierung unterscheidet sich charakteristisch von früheren Methoden, bei denen Kolloide mehr oder weniger in Polymere eingebettet wurden. Die hier verwendeten Liganden verhalten sich wie in Komplexen und Clustern und verleihen den Kolloiden „molekularen“ Charakter. Die Kolloide zeigen Metallglanz. Die HRTEM-Untersuchungen der Gold-Platin- und Gold-Palladium-Partikel zeigen beträchtliche strukturelle Unterschiede, auch wenn beide mit ungefähr 35 nm gleich groß sind.

Im Falle der Au/Pt-Partikel beobachten wir einheitlich große heterogene Agglomerate, die einen durchschnittlichen Goldgehalt von etwa 15 Atom-% aufweisen. Diese Agglomerate sind aus einem Goldkern aufgebaut, der von etwa 5 nm großen Platinkristallen umgeben ist, die untereinander ziemlich „locker“ verbunden sind (Abb. 1 links). Die EDX-Mikroanalyse zeigt deutlich, daß die äußere Schicht aus kleineren Platinkristallen besteht (Abb. 1 rechts). Dies wird durch Vergleich des Spektrums, das durch Fokussieren des Elektronenstrahls (Durchmesser 39 nm) auf die gesamte Par-

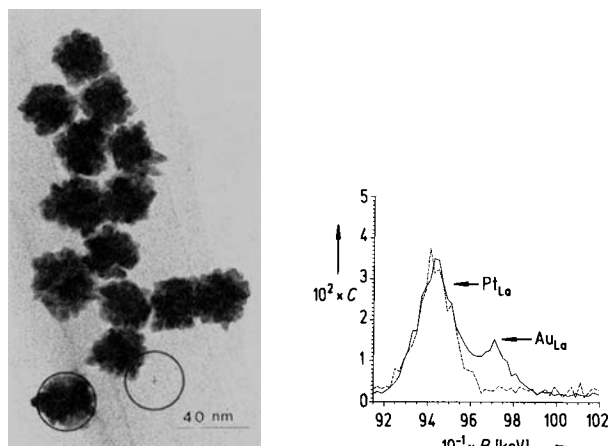


Abb. 1. Links: HRTEM-Aufnahme von Au/Pt-Partikeln auf einem amorphem Kohlenstoff-Film. Die EDX-Spektren (rechts) werden mit einem Elektronenstrahl erhalten, der wie die Kreise im linken Teil der Abbildung positioniert ist. Die Registrierzeit für das EDX-Spektrum, bei dem der Elektronenstrahl nur die Kante des Teilchens trifft, ist zehnmal länger als im Falle des zentrierten Strahls. --- Kante, — Zentrum der Partikel. C = Zählrate, R = Meßbereich. L_α bezeichnet den Elektronenübergang von der M- in die L-Schale.

[*] Prof. Dr. G. Schmid, Dipl.-Chem. A. Lehnert
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Universitätsstraße 5–7, W-4300 Essen 1

Dr. J.-O. Bovin, M. Sc. J.-O. Malm
National Center of HREM, Inorganic Chemistry 2
Chemical Center, P.O. Box 124, S-22100 Lund (Schweden)

[**] G. S. und A. L. sind dem Fonds der Chemischen Industrie für die finanzielle Unterstützung zu Dank verpflichtet. J.-O. B. und J.-O. M. danken dem Swedish Natural Science Research Council und der Swedish National Energy Administration.

tikel erhalten wird, (linker Kreis in Abb. 1 links) und das Information sowohl über Au als auch Pt liefert, mit demjenigen, das erhalten wird, wenn der Strahl nur die äußeren 5 nm der Partikel abdeckt (rechter Kreis in Abb. 1 links) bewiesen. Das letztere Spektrum weist nur Signale von Pt auf, wie aus den Au- und $Pt_{L\alpha}$ -Spektren hervorgeht, die in Abbildung 1 rechts verglichen werden. Die Strahlverbreiterung (0.8 nm bei 200 kV und 10 nm Kristalldicke) ist bei kleinen Partikeln dieser Dicke vernachlässigbar.

Die HRTEM-Abbildungen der Au/Pt-Partikel deuten an, daß dem Aufwachsen der äußeren Pt-Schicht die Bildung 5 nm kleiner Pt-Kristalle vorausgeht. Diese kleinen Kristalle werden dann an die Oberfläche der 18 nm großen Au-Partikel angelagert.

Laser-optische Diffraktogramme der 35 nm großen Partikel zeigen, daß die Kristalle, aus denen die ganze Partikel zusammengesetzt ist, im Prinzip auf zwei Arten zueinander orientiert sein können (Abb. 2 links). In der mit A gekennzeichneten Partikel haben fast alle Kristalle gleiche kristallographische Orientierung, wie das optische Diffraktogramm von A zeigt.

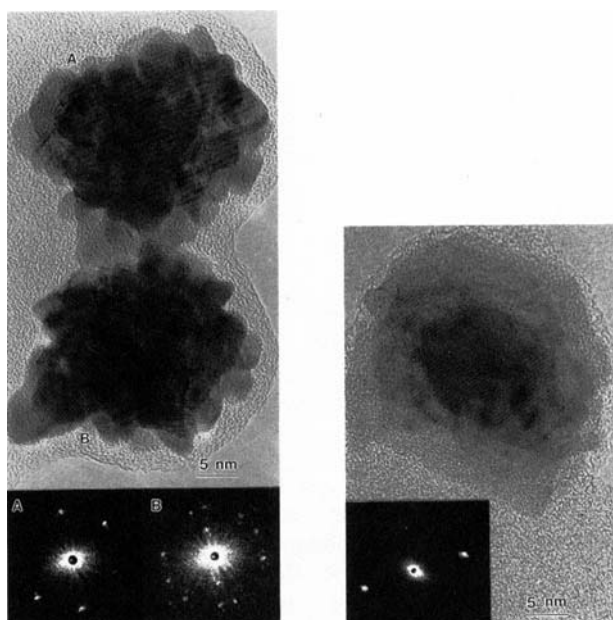


Abb. 2. Links: Zwei Typen von Au/Pt-Partikeln, abgebildet mittels HRTEM bei 400 kV. Das optische Diffraktogramm der gesamten Partikel A ist unten links, dasjenige von B unten rechts abgebildet. Rechts: Ein strukturell gut geordnetes Au/Pd-Teilchen, abgebildet mittels HRTEM bei 400 kV. Das optische Diffraktogramm der gesamten Partikel ist eingefügt.

Dagegen zeigt das optische Diffraktogramm von Partikel B eine willkürliche Orientierung der kleinen Pt-Kristalle, die die äußere Schale der Partikel bilden. Der Grund für das Auftreten von zwei intergranularen Strukturen ist unklar; dies könnte jedoch von der Struktur des 18 nm-Au-Kernes abhängen. Frühere Untersuchungen^[5] an Au-Kolloiden zeigten, daß die Struktur entweder einkristallin ohne Defekte oder polykristallin sein kann. Eine einkristalline Struktur des Kernes kann leicht Partikeltyp A induzieren, wenn die Pt-Kristalle epitaktisch auf den Goldkern aufwachsen, während eine vielfach verzwilligte Struktur des Kernes mehrere Möglichkeiten für die Orientierung der angewachsenen Pt-Kristalle bietet.

Im Gegensatz zur Gold-Platin-Legierung bilden Gold und Palladium eine kontinuierliche Reihe fester Lösungen^[2]. Reduziert man eine wäßrige Lösung von H_2PdCl_4 mit Hydroxylamin in Gegenwart von 18 nm-Au-Kolloiden und

komplexiert mit $pH_2NC_6H_4SO_3Na$, so können Au-Pd-Kolloide in Form eines silbergrauen, metallisch aussehenden Feststoffes isoliert werden. Solche Kolloide sind in Wasser unter Braunfärbung wieder löslich.

HRTEM-Untersuchungen dieser Kolloide zeigen andere Strukturbilder als die Au/Pt-Kombinationen. Zwei Partikelarten können unterschieden werden. In Abbildung 2 rechts ist eine Partikel mit vollständig geordneter Struktur gezeigt, wie das eingefügte optische Diffraktogramm belegt. Ein Vergleich dieser Partikel mit der Au/Pt-Partikel A in Abbildung 2 links zeigt, daß die Au/Pd-Partikel eine glattere Oberfläche aufweist. Dadurch resultiert eine kleinere Oberfläche. Der dunkle Kern der Au/Pd-Partikel kann als Goldnucleus interpretiert werden, der von einer helleren Schale gut geordneter Palladiumatome umgeben ist. Diese wird für die leichtere Pd-Schale deutlicher sichtbar als im Falle von Pt.

Der zweite Au/Pd-Strukturtyp ähnelt Typ B von Au/Pt in Abbildung 2 links insofern, als das Teilchen ebenfalls ein optisches Diffraktogramm des „polykristallinen“ Typs liefert (Abb. 3 links). Die Oberfläche der intergranularen Struktur ist in diesem Fall auch glatter als im Falle von Au/Pt. Die HRTEM-Aufnahme der angenähert sphärischen Partikel zeigt ebenfalls einen dunklen Kern.

Das EDX-Spektrum einer derartigen einzelnen Partikel ergibt eine Zusammensetzung von etwa 17 Atom-% Gold und 83 Atom-% Palladium. Analysen der peripheren Regionen der Partikel (vgl. Abb. 1) ergeben ein Spektrum von nahezu reinen Palladium (Abb. 3). Die Zusammensetzung der Kolloide variiert nur unwesentlich. Der Durchmesser des Kolloids in Abbildung 3 links beträgt etwa 36 nm. Da die Keim-Goldkolloide einen durchschnittlichen Durchmesser von 18.5 nm haben, errechnet sich das Au:Pd-Verhältnis zu 1:5 bis 1:6. Dies steht in guter Übereinstimmung mit den Analyseergebnissen, wonach das durchschnittliche Atomverhältnis der Au/Pd-Partikel ungefähr 1:5 beträgt.

Während der Beobachtung mit einer Strahlintensität von $20-40 A cm^{-2}$ erwiesen sich die Partikel als stabil, abgesehen von einigen Oberflächenumlagerungen, wie sie stets auf Metalloberflächen beobachtet werden können. Die Röntgenmikroanalysen wurden mit einer etwas kleineren Intensität des Elektronenstrahls ($\approx 5 A cm^{-2}$) durchgeführt. In keinem Fall konnten strukturelle Veränderungen der Partikel beobachtet werden.

Die Abfolge der Metalle kann bei diesen Partikeln auch umgekehrt werden. So können z. B. 15 nm-Palladiumkollo-

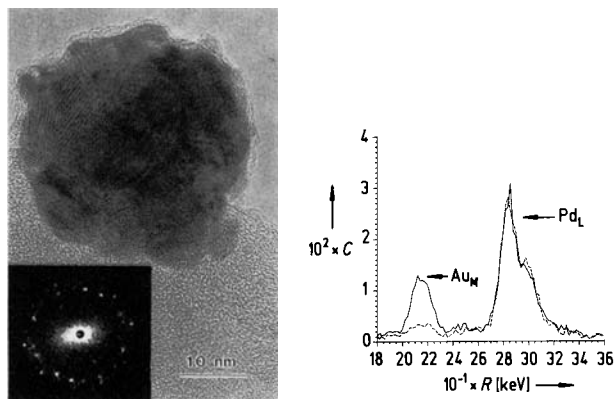


Abb. 3. Links: HRTEM-Abbildung eines „polykristallinen“ Au/Pd-Teilchens, aufgenommen bei 400 kV mit optischem Diffraktogramm. Rechts: Vergleich der EDX-Spektren eines Au/Pd-Partikels, wobei der Elektronenstrahl entsprechend den Kreisen in Abbildung 1 positioniert war. Die Registrierzeit des EDX-Spektrums, bei dem der Strahl auf den Rand des Teilchens trifft, ist zehnmal länger als im Falle des zentrierten Strahls. --- Kante, — Zentrum der Partikel. C = Zählrate, R = Meßbereich. L und M bezeichnen Elektronenübergänge in die L- bzw. M-Schale aus höheren Niveaus.

ide aus PdCl_2 in Salzsäure mit Trinatriumcitrat hergestellt werden. Fügt man Tetrachlorogoldsäure zu der kolloidalen Lösung und reduziert anschließend mit Hydroxylamin, so wird die äußere Schale aus Gold gebildet. Die Stabilisierung eines so hergestellten Pd/Au-Sols mit $\text{P}(m\text{-C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na})_3$ ergibt isolierbare Kolloide. Ihre Farbe entspricht der reiner ligandstabilisierter Goldkolloide. Mit diesen Methoden können Bimetall-Kolloide leicht hergestellt und stabilisiert werden. HRTEM und EDX sind zum Nachweis des schalenförmigen Aufbaus dieser Kolloide geeignet.

Experimentelles

Gold-Platin-Kolloide: 1600 mL vollentsalztes Wasser werden in einem 2-L-Becherglas zum Sieden erhitzt. 16 mL einer 1proz. Lösung von HAuCl_4 (5.00 g Au L^{-1}) und 80 mL einer 1proz. Lösung von Trinatriumcitrat werden nach und nach unter heftigem Rühren zugegeben. Anschließend wird die Lösung 1 h am Sieden gehalten. Man erhält ca. 1500 mL eines rubinroten Goldsols, das Teilchen von 18–19 nm Durchmesser enthält, wie elektronenmikroskopische Untersuchungen gezeigt haben. Diese Goldkolloid-Lösung wird in eine Mischung aus 116 mL einer 1proz. Lösung von H_2PtCl_6 (5.00 g Pt L^{-1}) und 100 mL einer 1proz. Lösung von H_3NOHCl in 8 L Wasser gerührt und anschließend auf 60°C erhitzt. Im Verlaufe von 3 h wird das rote Goldsol dunkelbraun (Farbe des Platinkolloids). Um die Partikel zu stabilisieren, werden 50 mg $p\text{-H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$ zugesetzt. Man engt im Wasserstrahlvakuum bis zur Koagulation ein (Entfärbung der Lösung). Der Niederschlag wird durch Zentrifugation abgetrennt (5000 Umdrehungen pro Minute) und im Vakuum getrocknet.

Gold-Palladium-Kolloide: Das Goldsol, nach der obigen Methode hergestellt, wird in einem 10-L-Becherglas auf 8 L verdünnt. Im Verlauf von 8 h werden 83 mL einer 0.037 molaren Lösung von H_2PdCl_4 (6.6 g PdCl_2 und 7.5 mL 1n HCl in 1 L H_2O) und 100 mL einer 1proz. Lösung von H_3NOHCl gleichzeitig zugegeben. Nach 48 h Rühren bei Raumtemperatur werden 2 g $p\text{-H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$ hinzugefügt, und anschließend wie oben isoliert. Das Produkt besteht aus silbergrauen Palladiumkolloiden, welche in Wasser vollständig löslich sind.

Mikroanalyse und Mikroskopie: Die Kolloide werden in Methanol dispergiert und auf einen durchlöchernten Kohlenstoff-Film gebracht. Die methanolfeuchte Probe wird anschließend in das Mikroskop gebracht, wo das Hochvakuum innerhalb des Mikroskops benutzt wird, um das Lösungsmittel zu entfernen. Die die Kolloide stabilisierenden Liganden können durch den auf die beobachtete Fläche auftreffenden Elektronenstrahl entfernt werden. Die hochauflösende Elektronenmikroskopie wurde mit einem JEM-4000 EX-Gerät durchgeführt, das mit einer Beschleunigungsspannung von 400 kV betrieben wurde und das eine strukturelle Auflösung von 0.16 nm erreichte. Die EDX-Analyse erfolgte mit einem Link-AN-10000 System, das an ein JEM-2000-FX-STEM-Mikroskop mit einer Strahlfokussierung von 30 nm gekoppelt war. Die EDX-Spektren wurden mit einer Software für Dünnschichtanalyse (Link RTS 2/FLS) ausgewertet.

Eingegangen am 27. Dezember 1990 [Z4356]

- [1] R. S. Miner, Jr., S. Namba, J. Turkevich, *Proc. VII. Intern. Congr. Catal.*, Elsevier, New York 1981.
- [2] M. Hansen: *Constitutions of Binary Alloys*, Mc Graw Hill, New York 1958.
- [3] G. Schmid, A. Lehnert, *Angew. Chem.* 101 (1989) 773; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 780.
- [4] J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* 11 (1951) 55.
- [5] J.-O. Bovin et al., unveröffentlicht.

Enzymatische zweistufige Synthese von *N*-Acetylneuraminsäure im Enzym-Membranreaktor

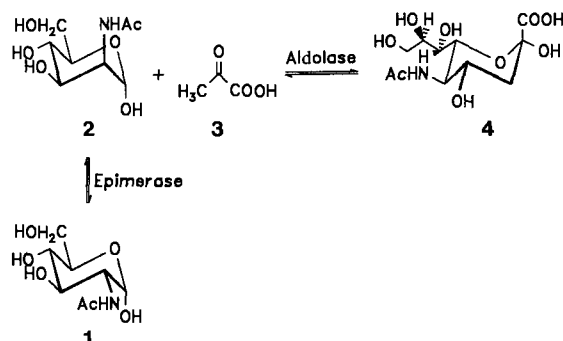
Von Udo Kragl, Daniel Gygax, Oreste Ghisalba und Christian Wandrey*

N-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac) 4 ist die bekannteste Verbindung unter den Sialinsäuren, einer speziellen Klasse

[*] Prof. Dr. C. Wandrey, Dipl.-Chem. U. Kragl
Forschungszentrum Jülich, Institut für Biotechnologie
Postfach 1913, W-5170 Jülich
Dr. D. Gygax, Dr. O. Ghisalba
Ciba Geigy AG, Zentrale Forschungslaboratorien
Basel (Schweiz)

von Aminosuktern. Diese sind in endständigen Positionen von Glycoproteinen und Glykolipiden zu finden, die eine wesentliche Rolle bei biologischen Erkennungsprozessen spielen^[1,2]. Derivate von Neu5Ac finden Verwendung als Inhibitoren von Sialidasen^[3]. Die mit Cytidin-5'-monophosphat aktivierte Neu5Ac wird zur in-vitro-Synthese von Sialyloligosacchariden verwendet^[4]. Da diese Substanzklassen wegen ihrer biologischen Funktion zunehmend an Interesse gewinnen, werden steigende Mengen an Neu5Ac benötigt. Diese wird zur Zeit aus natürlichen Quellen isoliert, wodurch die Verfügbarkeit limitiert und der Preis relativ hoch ist.

In den letzten Jahren wurden mehrere enzymatische Synthesen von Neu5Ac 4 ausgehend von *N*-Acetylmannosamin (ManNAc) 2 und Brenztraubensäure 3 beschrieben, wobei als Katalysator *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolase (E.C. 4.1.3.3) dient^[5]. Dabei wurde in der Regel ein sieben- bis zehnfacher Überschuss an 3 verwendet, um hohe Umsätze zu erzielen. 2 wurde durch basenkatalysierte Epimerisierung von *N*-Acetylglucosamin (GlcNAc) 1 chemisch hergestellt^[6]. Das Reaktionsprodukt enthält die beiden Epimere im Verhältnis von etwa 1:1. 1 ist kein Substrat für die Aldolase^[5].



Wir beschreiben hier ein Verfahren, bei dem die Epimerisierung ebenfalls enzymatisch mit *N*-Acetylglucosamin-2-Epimerase (E.C. 5.1.3.8) durchgeführt wird^[7]. Durch Kopplung dieser mit der oben genannten Enzymreaktion wird 2 ohne Isolierung direkt weiter zu 4 umgesetzt. Durch Einsatz der beiden Enzyme in gelöster Form im Enzym-Membranreaktor (EMR) gelingt die Synthese von Neu5Ac 4 besonders ökonomisch.

Der EMR ist für den Einsatz gereinigter Enzyme erprobt^[8]. Das Prinzip des EMR-Verfahrens ist in Abbildung 1 dargestellt. Die Substrate werden mit konstantem

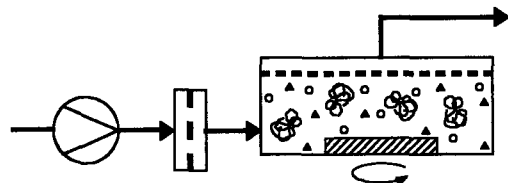


Abb. 1. Prinzip des Enzym-Membranreaktors mit Pumpe und Sterilfilter.

Fluß entsprechend einer konstanten Verweilzeit durch ein Sterilfilter in den Reaktor gepumpt. Die homogen gelösten Enzyme werden durch eine Ultrafiltrationsmembran im Reaktor zurückgehalten, die jedoch für die Substrat- und Produktmoleküle durchlässig ist. Die Anordnung wird vor dem